中华蜜蜂工蜂王浆腺活性的变化*

杨冠煌 王瑞武 杜芝兰
(中国农业科学院养蜂研究所，北京 100093) (北京大学生物系，北京 100871)

摘要 本试验以短期体外放射化学测定法，测定了中华蜜蜂（*Apis cerana cerana*）工蜂的王浆腺（HP）的活性，以意大利蜂（*Apis mellifera ligustica*）进行对比。结果表明工蜂的 HP 在体外培养液中1—6小时掺入的放射性 DPM 几乎呈直线增加。春夏繁殖期，中华蜜蜂7日龄工蜂的 HP 活性最强，而意大利蜜蜂是10日龄。中华蜜蜂的越冬工蜂的 HP 虽呈发育状态，但活性低。而在早春，当蜂群内部出现幼虫时，越冬工蜂的 HP 又呈现活性。

关键词 中华蜜蜂 意大利蜜蜂 王浆腺活性

蜜蜂王浆腺又叫咽下腺（Hypopharyngeal gland，简称 HP），一对位于工蜂头部的泡状腺体，是合成、分泌王浆物质的主要器官。这种合成、分泌王浆物质的能力称为王浆腺的活性(HP activity)。Hassanein（1952）对意大利蜜蜂工蜂的 HP 的腺泡大小进行测量，他认为腺泡越大，活性越高。Fluri（1982）提出以腺体的重量作为活性指标。以上作者的观点具有明显的片面性，如越冬工蜂的王浆腺很肥大，但不分泌王浆。Brouwers (1982)把王浆腺进行体外培养，添加 ^{14}C-亮氨酸标记测出 HP 合成王浆物质的能力作为活性指标。他在意大利蜜蜂工蜂上测定结果表明，这是一种客观、可行的测定 HP 活性方法。

本试验采用 Brouwers 的测定方法，但改用 ^{3}H-亮氨酸进行标记。研究中华蜜蜂工蜂王浆腺活性与日龄、季节的变化，并以意大利蜜蜂作对比。今报道结果如下。

材料与方法

1. 中华蜜蜂购自北京市房山县。意大利蜜蜂来自中国农科院养蜂研究所蜂场。使用丙酮溶解赛珞珞加颜色制成的胶水对刚羽化的工蜂（0—12小时)进行标记，然后放入原蜂群，供测定不同日龄工蜂王浆腺活性状态使用。^{3}H-亮氨酸(比强 122 居里/毫克分子）购自中国科学院上海核技术开发公司。PP°(2.5-diphenyl-oxyazol）闪烁体系上海试剂一厂生产。

王浆腺人工培养液的配方，基本上采用 Brouwers 的配方，只是把核黄素、生物素、$MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 的剂量减少一半。人工培养液制成后，用 2mol/L KOH 把 pH 值调至 6.65，抽滤（0.2 微米的微孔滤膜)后，置冰箱(4℃)中保存。

蜜蜂生理盐水配方：参照蜜蜂成蜂血淋巴的主要成分配制的生理盐水配方列入表1。

本文于1988年8月17日收到。
* 本文系国家自然科学基金项目。
承肖京城、曾鸣同志帮助，特此致谢。

表 1　蜜蜂生理盐水配方

成　　分	剂量(克/升)
KCl	5.55
NaCl	0.88
CaCl	0.33
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	2.03
葡萄糖	10.00
果　糖	10.00
蔗　糖	5.00

2. 摘取工蜂王浆腺的方法：把工蜂置于 0℃ 中冷冻，取头部用 70% 乙醇溶液表面灭菌，再用三蒸水洗净残存乙醇，放在蜜蜂生理盐水中，在解剖镜下，解剖头部取出二条完整的王浆腺。

3. 王浆腺活性的放射性测定：把 HP 用无菌的蜜蜂生理盐水冲洗后，放入盛有 300 微升培养液的青霉素小瓶中，每瓶加入 4 微居里/微升的 ^3H-亮氨酸 1 微升。盖紧橡皮塞置于 30℃ 中培养。培养结束时用 300 微升含 20 毫克分子亮氨酸的 20% 三氯乙酸溶液加入培养液中混和，以终止 ^3H-亮氨酸的掺入。然后取出王浆腺组织反复用 7% 的三氯乙酸和蒸馏水冲洗，再放入小试管中，加入 200 微升高氯酸和 400 微升过氧化氢，用橡皮膏封口，在 70—80℃ 的干燥箱中消化 40—50 分钟，中间振动 1—2 次，冷却至室温。取 100 微升已消化的王浆腺液，放入闪烁杯中，加入 1.5 毫升乙二醇独乙醚助溶，最后加 5 毫升甲苯闪烁液，放入 LKB 液体闪烁计数器测定放射性。以每分钟衰变数 DPM 表示。测出的数值反映王浆腺从培养液中掺入 ^3H-亮氨酸保留在腺体内的数量，以 I-DPM (In-DPM) 表示，王浆腺分泌在营养液的王浆物质中的 ^3H-亮氨酸数量以 O-DPM(Out-DPM) 表示。因此王浆腺在培养过程中掺入放射物质总量是 I-DPM 与 O-DPM 之和。

O-DPM 的测定方法：把取出王浆腺的培养液倒在滤纸上（直径 25 毫米），抽气过滤，然后用 7% 的三氯乙酸冲洗 5 次、95% 乙醇冲洗 4 次后，把滤纸片放入含 7 毫升甲苯闪烁液的闪烁杯中，用 LKB 液体闪烁计数器测定放射性。本试验以 I-DPM 和 O-DPM 同时作为王浆腺的活性指标。

结　　果

一、不同培养时间中华蜜蜂工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 的变化

从蜂群中取 7 日龄的中华蜜蜂和意大利蜜蜂的工蜂各 30 只，摘取王浆腺分别放入 30 个培养瓶中，每隔 1 小时分别测定 5 个王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值。结果见图 1。

从图 1 表示王浆腺的活性变化，显示出 1—6 小时 HP 的活性几乎呈直线上升。I-DPM 显示出中华蜜蜂与意大利蜜蜂几乎是同步上升。但 O-DPM 显示出意大利蜜蜂从第 2 小时起比中华蜜蜂有较大幅度上升。根据这种结果，我们在以下的实验内容均以王浆腺的活性直线上升时第 4 小时作为测定时间。

二、不同日龄工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 的变化

取 1、4、7、10、13、16、19 日龄和巢外采集蜂的中华蜜蜂和意大利蜜蜂的工蜂各 5 只进行 I-DPM 和 O-DPM 的测定。结果见图 2。

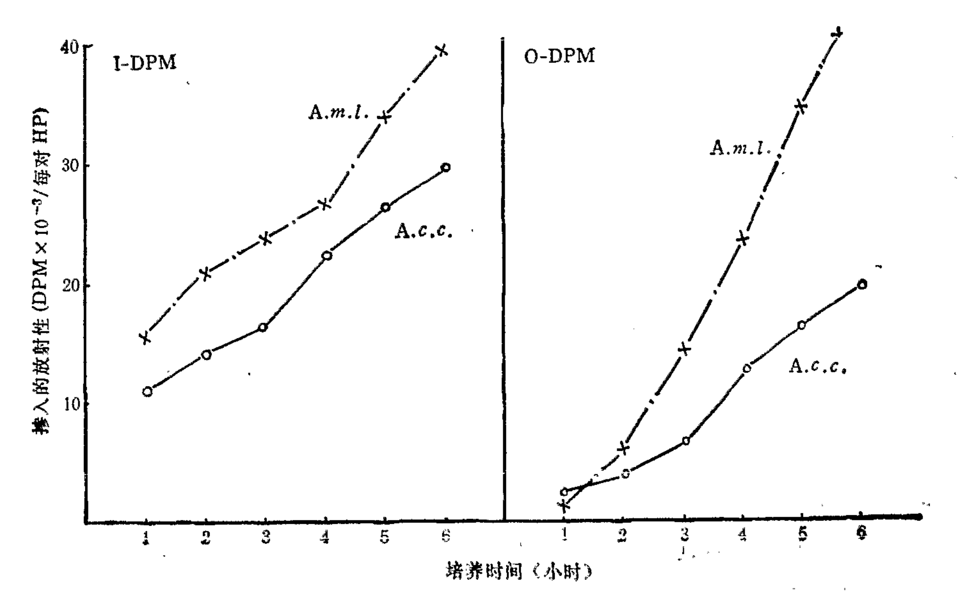


图 1　不同培养时间王浆腺掺入的 DPM 变化
A. c. c. 为中华蜜蜂　*A. m. l.* 为意大利蜜蜂

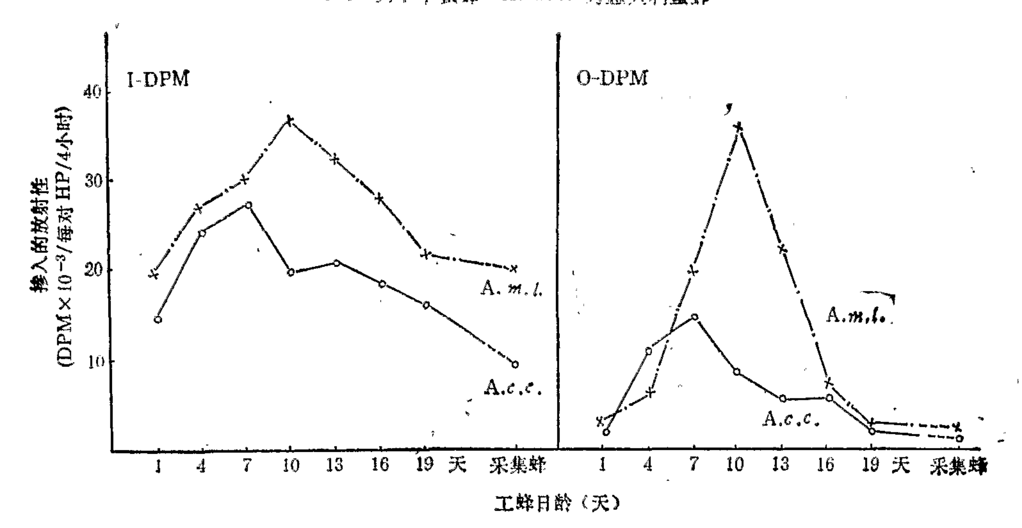


图 2　不同日龄工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 的变化
A. c. c. 为中华蜜蜂　*A. m. l.* 为意大利蜜蜂

从图 2 中显示：中华蜜蜂工蜂 1 日龄的 I-DPM 值很小，1—4 日龄迅速增加，4—7 日龄上升变缓，7 日龄达到高峰，以后随日龄的增加 I-DPM 值平缓而波动下降，至 19 日龄已接近采集蜂的水平。意大利蜜蜂工蜂 10 日龄的 I-DPM 才达到高峰，以后平缓下降至 19 日龄已接近采集蜂的水平。但各日龄的 I-DPM 值均高于中华蜜蜂。O-DPM 的最高值中华蜜蜂在 7 日龄、意大利蜜蜂在 10 日龄。两个蜂种工蜂王浆腺的 O-DPM 最高值的差距比 I-DPM 大。

三、冬季越冬工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值

1987 年 1 月 13 日从越冬的蜂群内随机取出工蜂 10 只，测定王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值。并以意大利蜜蜂作对比。结果列入表 2。

表 2 的数值表明：中华蜜蜂和意大利蜜蜂的越冬工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值均很低。然而王浆腺体是处于发育状态。

四、早春，蜂群内出现幼虫时越冬工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值

1987 年 4 月 1 日从中华蜜蜂和意大利蜜蜂群内取出去年越冬工蜂各 10 只，测定 I-DPM 和 O-DPM 值。结果列入表 2。从表 2 数值表明，两个蜂种早春的越冬老工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM 值均高于冬季处于越冬状态的工蜂。而两者王浆腺体的发育状态相同。

表 2　越冬工蜂王浆腺的 I-DPM 和 O-DPM

取样日期（年.月.日）	项　目	中华蜜蜂 $\bar{X}\pm S$	意大利蜜蜂 $\bar{X}\pm S$
越冬期 1987.1.13	I-DPM	12367.19±3677.93	14844.98±4734.93
	O-DPM	1697.76±203.62	2094.99±522.58
早春 1987.4.1	I-DPM	18860.18±5484.93	29793.45±9885.89
	O-DPM	3170.45±1252.56	5807.79±1837.87

讨　论

1. 从 I-DPM 的结果表明中华蜜蜂工蜂的 HP 在吸入外界营养合成王浆主要成分蛋白质的速度、数量上虽不如意大利蜜蜂，但差距不大。然而 O-DPM 的结果却表明中华蜜蜂工蜂 HP 在分泌王浆物质的速度大大低于意大利蜜蜂。这种现象可能是中华蜜蜂生产王浆少的一个原因。测定的数值还表明中华蜜蜂工蜂的 HP 分泌高峰后依然能维持较高的活性状态，而且个体之间差异比意大利蜜蜂大，这反映出该蜂种还处于较野生状态，可以通过人工选育和改进饲养技术提高 HP 分泌王浆的能力。

2. 中华蜜蜂和意大利蜜蜂越冬期工蜂的 HP 虽呈发育状态，而活性很低。而到了早春，当蜂群内出现幼虫时，这些工蜂 HP 的活性立刻大幅度提高。这种结果表明 HP 的活性与发育状态没有直接关系，而幼虫能够激发 HP 的活性。至于幼虫通过什么信息激发 HP 的活性，有待进一步研究。

参　考　文　献

Hassanein, M. H. 1952 The effects of infection with *Nosema apis* on the pharyngeal salivary glands of the worker honybee. *Proc. R. Ent. Soc. Lond.* 27A: 22—7.

Fluri, P. et al. 1982 Changes in weight of the hypopharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honeybee. *J. Insect physiol.* 28: 61—81.

Brouwers, E. V. M. 1982 Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honeybee. *J. Apicultural Res.* 21 (4): 193—8.

HYPOPHARYNGEAL GLAND ACTIVITY IN THE WORKERS OF *APIS CERANA CERANA*

YANG GUAN-HUANG WANG RUI-WU
(*Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing* 100093)

DU ZHI-LAN
(*Department of Biology, Beijing University, Beijing* 100871)

The *in vitro* hypopharyngeal gland (HP) activity of the workers of *Apis cerana cerana* (*A.c.c.*) of different age and at different seasons was investigated with short-term radiochemical assay. The difference of the HP activities between *A.c.c.* and *Apis mellifera ligustica* (*A.m.l.*) was noticeable. The results are as follows: 1. The incorporation of ^{3}H-leucine by isolated HP and the portion secreted from the HP into the incubation medium were measured at different periods. It was seen that the rate of incorporation of ^{3}H-leucine was almost linear over a period of 6 hours. 2. During spring or summer, the activity of full-grown HP of the *A.c.c.* workers 7 days old was the highest while in the *A.m.l.* workers it was highest when they were 10 days old. 3. In winter, the HPs of overwintering *A.c.c.* workers are hypertrophied, but the glands isolated from such bees were found to display low activity. In the early spring when the colony started to breed, the HP of overwintering *A.c.c.* workers showed conspicuous variation in activity.

Key words *Apis cerana cerana*——*Apis mellifera ligustica*——hypopharyngeal gland activity